植 物 分 类 学 报 45 (4): 570–575(2007)
Acta Phytotaxonomica Sinica

doi:10.1360/aps06086
http://www.plantsystematics.com

宽叶泽苔草萜类化学成分分析及其化学分类学意义

郑向炜　潘海韵　王玉国　陈家宽*
(复旦大学生物多样性科学研究所　上海 200433)

Chemical analysis of diterpenoids in *Caldesia grandis* and its chemotaxonomic implication

ZHENG Xiang-Wei　PAN Hai-Yun　WANG Yu-Guo　CHEN Jia-Kuan*
(*Institute of Biodiversity Science, Fudan University*, Shanghai 200433, China)

Abstract *Caldesia grandis* is a rare and endangered aquatic plant of the Alismataceae family. This paper first reports 43 chemical components of *C. grandis* based on the gas chromatography-mass spectrometry and reviews research on the chemical compositions of some closely related genera such as *Alisma*, *Sagittaria*, and *Echinodorus*. Their common chemical components are diterpenoids. Kaurane diterpenoids are found in *Caldesia*, *Alisma* and *Sagittaria*; clerodane diterpenoids in *Sagittaria* and *Echinodorus*; and pimarene and abietene diterpenoids in *Sagittaria*. By the biogenesis of diterpenoids, kaurane and abietene diterpenoids represent evolutionarily derived compounds, clerodane diterpenoids are primordial, and pimarene diterpenoids are intermediate. The chemotaxonomy, karyotypical analysis and fossil records of those genera showed that *Caldesia* was evolutionarily closer to *Alisma* than to *Sagittaria* and *Echinodorus.* Possible evolution levels of *Echinodorus*, *Sagittaria*, *Alisma*, *Caldesia* in chronological order are derived.
Key words *Caldesia grandis*, *Alisma*, *Sagittaria*, *Echinodorus*, diterpenoid.

摘要　宽叶泽苔草*Caldesia grandis*隶属泽泻科Alismataceae，是一种珍稀濒危水生植物。其化学成分迄今未见报道。本文利用气质联用的方法鉴定了该植物的43种化学成分，并总结了已报道的其近缘泽泻属*Alisma*、慈姑属*Sagittaria*、刺果泽泻属*Echinodorus*植物的化学成分，据此进行化学分类学分析：它们的特征化学成分是二萜，宽叶泽苔草和泽泻属植物的二萜成分是处于二萜生源合成途径最顶端的kaurane类型；慈姑属植物的二萜成分既有处于该途径底端的clerodane型、中间的pimarene型，也有顶端的kaurane型、abietene型二萜；刺果泽泻属植物的二萜成分是处于该途径底端的clerodane型。宽叶泽苔草和泽泻属植物都有桉叶烷型和愈创木烷型的倍半萜。因此宽叶泽苔草和泽泻属植物的亲缘关系比慈姑属、刺果泽泻属植物的近，由此推测它们的进化层次可能依次是刺果泽泻属植物、慈姑属植物、泽泻属植物、宽叶泽苔草。
关键词　宽叶泽苔草；泽泻属；慈姑属；刺果泽泻属；二萜

宽叶泽苔草*Caldesia grandis* Samuel.是多年生挺水草本植物，隶属于泽泻科Alismataceae泽苔草属*Caldesia* Parl.。泽苔草属共3种：宽叶泽苔草、泽苔草*C. parnassifolia* (Bassi ex L.) Parl.和*C. oligococca* (F. Muell.) Buchen.，均分布在东半球。其中中国分布的有宽叶泽苔草和泽苔草两种。宽叶泽苔草的生境遭到破坏，其种群数量不断减少，曾被认为从我国大陆消失，直到林祁和刘克明(1997)在湖南莽山自然保护区再次发现它们。目前

2006-05-25 收稿, 2007-02-13 收修改稿。
* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: jkchen@fudan.edu.cn)。

宽叶泽苔草在中国仅存4个野生居群, 2个在湖南莽山国家自然保护区内, 1个在云南腾冲县境内, 另外1个分布在台湾。现存居群的规模均较小, 已属濒危植物(Gituru et al., 2002)。

目前, 对宽叶泽苔草的研究主要集中在形态学、细胞学、繁殖生物学和保护遗传学等方面(Posluszny & Charlton, 1993; 王勇等, 2001; Gituru et al., 2002; 陈丹等, 2003; 陈进明, 2005)。王勇等(2001)对采自湖南莽山自然保护区的宽叶泽苔草进行了细胞学研究, 结果表明其染色体数目为22, 组型高度不对称。结合前人(Charles, 1981; Kristina & Bruce, 1997)对宽叶泽苔草一些近缘种的细胞学及古生物学研究结果, 他们认为泽苔草属植物很可能是泽泻科中最进化的一个属。Gituru等(2002)对该地点宽叶泽苔草的传粉生物学进行研究, 并对其生境及生存力进行了分析, 为这一濒危植物的保护提出了建议。陈丹等(2003)通过扫描电镜观察了宽叶泽苔草的花器官发生, 认为其萼片3枚, 逆时针螺旋向心发生的方式是泽泻科植物进化过程中保留下来的较原始的叶性特征, 同时也探讨了雄蕊、心皮共轮现象的进化意义, 综合认为宽叶泽苔草可能是一个过渡类群。陈进明(2005)、Chen和Wang (2006)对莽山自然保护区和腾冲北海湿地保护区的3个宽叶泽苔草自然居群进行了群体遗传学研究, 揭示了有性繁殖在其居群演化历史上可能扮演着重要角色, 并认为它的遗传变异在空间分布上的差异性可能是由于生境的不同造成的, 同时表明宽叶泽苔草各个居群之间有较高的基因流。这些研究结果为该珍稀濒危水生植物的保护提供了相关的遗传学背景资料。有关宽叶泽苔草和其近缘类群亲缘关系的研究有限, 它的进化位置尚存争议(王勇等, 2001; 陈丹等, 2003), 所以保护该种濒危植物的系统学背景和意义并不明确。

本文拟通过研究宽叶泽苔草的化学成分, 并总结已报道的泽泻属*Alisma* L.、慈姑属*Sagittaria* L.、刺果泽泻属*Echinodorus* Rich. ex Engelm.植物的化学成分, 从化学分类学的角度研究它们的亲缘关系及进化位置, 以期为合理有效保护这一珍稀物种提供系统学背景资料。

1 材料和方法

宽叶泽苔草采集于武汉大学植物温室, 由武汉大学生命科学学院王青锋教授鉴定, 凭证标本存于复旦大学生物多样性科学研究所标本馆, 全草阴干, 粉碎, 用95%乙醇80 ℃回流提取, 提取物浓缩, 10%乙醇混悬, 分别用石油醚、氯仿萃取, 萃取液浓缩, 取两部分萃取物各1 g溶解于二氯甲烷(HPLC级), 溶液进行气相-质谱联用分析。

气相色谱仪为日本岛津GC27AG, 带有氢焰离子化检测器和Shimadzu C2RIB微机处理系统。使用DB25毛细管柱(30 m×0.132 mm)。气相色谱条件: 程序升温60 ℃, 保持2 min, 然后按10 ℃/min的速度升温至260 ℃, 保持10 min。载气为氮气, 流速为30 mL/min, 汽化室和检测器温度均保持在260 ℃, 分流比1/50, 进料量0.3 μL, 气相色谱-质谱联用仪为JMS2D3002JMA 200气相色谱-质谱-计算机联用仪, 质谱库为NIST-MS-1998。

2 结果

根据质谱库检索以及查对有关标准质谱图资料从两个萃取部分一共鉴定了43个化合物，其中石油醚部分已鉴定的20个化合物列于表1，氯仿部分鉴定的23个化合物列于表2。

表1 宽叶泽苔草石油醚萃取部分化学成分

Table 1 The partial chemical compositions of petroleum ether fraction of *Caldesia grandis*

化合物类别 The nature of compounds	化合物 Compound	含量 Content (%)
长链烃、酯、酮、醇、脂肪酸 Long-chain aliphatic alkane, ester, ketone, alcohol, fatty acid	4-Methylheptane	0.04
	2-Methyl-1-pentanol	0.07
	2,4-Dimethy-1-heptene	0.14
	2-Tridecanone	20.85
	2-Tetradecanone	1.54
	2-Pentadecanone	3.87
	Tetradecanoic acid	0.26
	2-Pentadecanone	0.17
	Pentadecanoic acid	0.54
	n-Hexadecanoic acid	0.60
	Carboxylic acid	8.91
	Phytol	5.79
	9,12-Octadecadienoic acid	1.34
	Octadecadienoic acid	1.16
	Pentadecadien-1-ol	3.29
	9,12,15-Octadecatrienoic acid	2.73
	Octadecanoic acid	0.71
倍半萜 Sesquiterpene	glaucyl alcohol	36.75
	Naphthalenone	0.17
二萜 Diterpene	Kaur-16-ene	0.18

表2 宽叶泽苔草氯仿萃取部分化学成分

Table 2 The partial chemical compositions of chloroform fraction of *Caldesia grandis*

化合物类别 The nature of compounds	化合物 Compound	含量 Content (%)
长链烃、酯、酮、醇、脂肪酸 Long-chain aliphatic alkane, ester, ketone, alcohol, fatty acid	Hexanoic acid	0.08
	4-Nonenal	0.19
	2-Tridecanone	0.46
	2-Tridecanol	0.91
	Tetradecanoic acid	0.72
	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	1.07
	2-Pentadecanone	0.87
	Nonadecane	0.20
	Pentadecanoic acid	0.40
	9-Hexadecenoic acid	0.42
	n-Hexadecanoic acid	12.99
	Hexadecanoic acid	1.55
	Phytol	9.91
	9,12-Octadecadienoic acid	3.57
	9,12,15-Octadecatrien	0.63
	Octadecanoic acid	3.29
倍半萜 Sesquiterpene	Cadinol	0.81
	Aromadendrene oxide	0.99
	Azulene	1.49
二萜 Diterpene	ent-kaur-16-en-19-ol	1.19
甾醇 Sterol	Campesterol	1.90
	Stigmasterol	2.84
	Sitosterol	8.38

3 讨论

3.1 宽叶泽苔草和泽泻属植物倍半萜类成分比较

已经报道从泽泻属植物东方泽泻*Alisma orientale* (Samuel.) Juz.和日本泽泻*A. japanese* (Samuel.) Juz.中分离得到16个倍半萜类化合物(Peng et al., 2002, 2003), 其中有2个吉马烷型化合物、1个桉叶烷型化合物、13个愈创木烷型化合物(表1, 2), 从宽叶泽苔草中鉴定了5个倍半萜类化合物, 其中有3个桉叶烷型化合物(Naphthalenone, Cadinol, tricyclo-3-ene-3-methanol (Aromadendrene oxide))、2个愈创木烷型化合物(Glaucyl alcohol, Azulene)。

3.2 宽叶泽苔草和泽泻属、慈姑属、刺果泽泻属植物二萜类成分的比较

根据本文宽叶泽苔草石油醚和氯仿萃取部分化学成分研究结果以及已经报道的泽泻属、慈姑属、刺果泽泻属植物化学成分研究结果分析, 二萜化合物是它们共有的特征化学成分。宽叶泽苔草、泽泻属、慈姑属、刺果泽泻属植物二萜化学成分如表3所示。

表3 泽苔草属、泽泻属、慈姑属、刺果泽泻属二萜类成分*
Table 3 Diterpenoids of *Caldesia*, *Alisma*, *Sagittaria* and *Echinodorus* *

化合物 Compound	二萜类型 The nature of diterpenes	植物来源 The specie used in the study	参考文献 Reference
Kaur-16-ene (C1)	kaurane	*C. grandis* Samuel.	Present study
ent-kaur-16-en-19-ol (C2)	kaurane	*C. grandis*	Present study
16 (R)-ent-Kaurane-2,12-dione (A1)	kaurane	*A. orientale* (Samuel.) Juz.	Peng & Lou (彭国平, 楼凤昌), 2002
Oriediterpenol (A2)	kaurane	*A. orientale*	Peng & Lou (彭国平, 楼凤昌), 2002
Oriediterpenoside (A3)	kaurane	*A. orientale*	Peng & Lou (彭国平, 楼凤昌), 2002
ent-kaur-16-en-19-ol (S1)	kaurane	*S. trifolia* L.	Yoshikawa et al., 1996
ent-kaur-16-en-19-oic acid (S2)	kaurane	*S. trifolia*	Yoshikawa et al., 1996
7,13-abietadien-3-one (S3)	abietene	*S. montevidensis* Cham. & Schltdl.	Yoshikawa et al., 1996
8,11,13-abietatrien-3-ol (S4)	abietene	*S. montevidensis*	Vanessa et al., 2004
tritolioneA,B,C,D (S5,S6,S7)	pimarane	*S. trifolia*	Vanessa et al., 2004
Isoabienol (S8)	clerodane	*S. trifolia*	Yoshikawa et al., 1996
13-episclareol (S9)	clerodane	*S. trifolia*	Yoshikawa et al., 1996
ent-13-epimanoyl oxide (S10)	clerodane	*S. trifolia*	Yoshikawa et al., 1996
ent-19-hydroxy-13-epimanoyl oxide (S11)	clerodane	*S. trifolia*	Yoshikawa et al., 1996
(-)-16-hydroxycleroda-3,13-dien-16,15-olide-18-oic acid (E4)	clerodane	*E. grandiflorus* Rich	Costa et al., 1999
(-)-16-hydroxycleroda-3,13-dien-16,15-olide-18-oic ester (E5)	clerodane	*E. grandiflorus*	Costa et al., 1999
hard-wickiic acid (E6)	clerodane	*E. grandiflorus*	Costa et al., 1999

*四属植物二萜化学成分用代号标注。
*The diterpenoids of four genera are marked with symbols.

3.3 宽叶泽苔草和近缘种植物亲缘关系及其进化位置的化学分类学证据

宽叶泽苔草和泽泻属植物均含有桉叶烷型、愈创木烷型倍半萜, kaurane型二萜, 所以它们有比较近的亲缘关系。如表3, 慈姑属植物有clerodane型、pimarene型、kaurane型、abietene型二萜成分; 刺果泽泻属植物有clerodane型二萜成分, 而均未报道有倍半萜类成

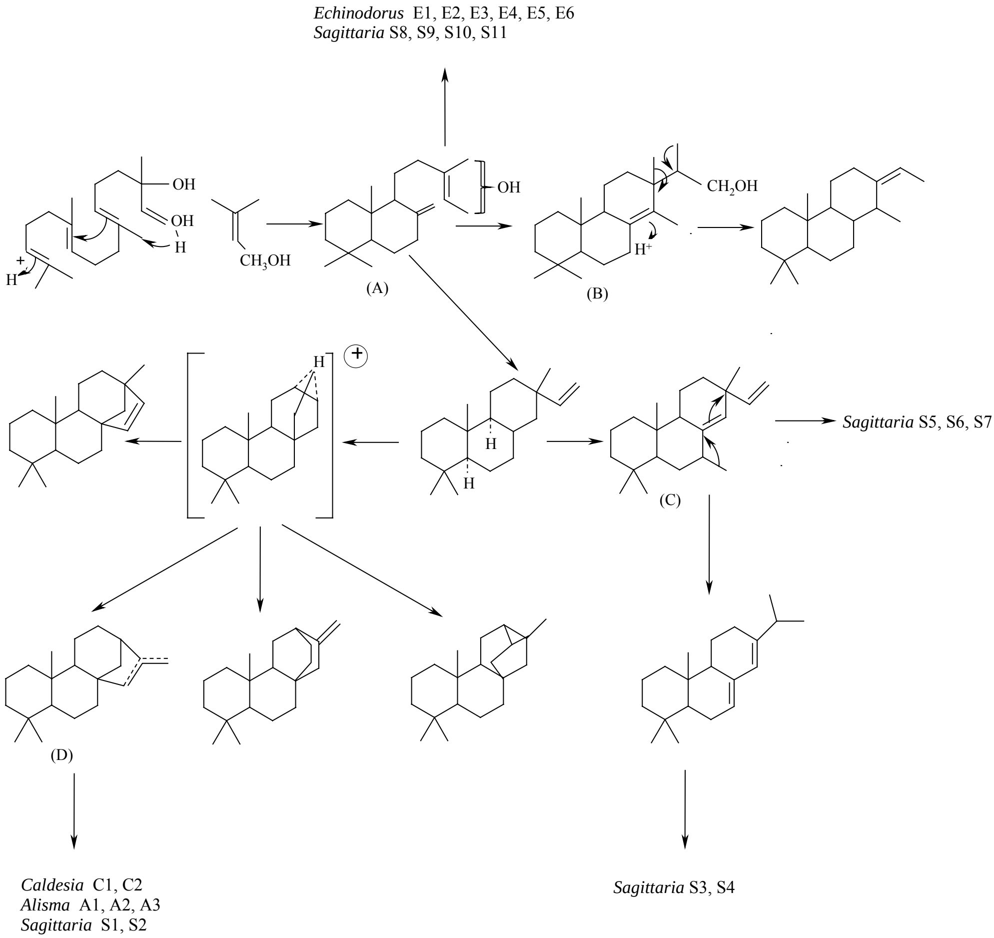


图**1** 宽叶泽苔草、泽泻属、慈姑属、刺果泽泻属植物的二萜化学成分在二萜生源途径中所处的演化位置 刺果泽泻属植物的二萜化合物E1–E6和慈姑属植物的二萜化合物S8–S11和A母核结构相同；慈姑属植物的二萜化合物S5–S7和C的母核结构相同；宽叶泽苔草的二萜化合物C1–C2、泽泻属植物的二萜化合物A1–A3、慈姑属植物的二萜化合物S1–S2和D的母核结构相同(从龙康侯等, 1984)。

Fig. 1. The evolutionary status of the diterpenoids of four genera in diterpenoid biogenesis. The skeletons of E1–E6 from *Echinodorus* and S8–S11 from *Sagittaria* are identical with cyclic A; the skeletons of S5–S7 from *Sagittaria* are identical with cyclic C; the skeletons of C1–C2 from *Caldesia,* A1–A3 from *Alisma* and S1–S2 from *Sagittaria* are identical with cyclic D (From Long et al., 1984).

分，所以宽叶泽苔草和慈姑属、刺果泽泻属植物比泽泻属植物的亲缘关系较远。

宽叶泽苔草和泽泻属植物的kaurane型二萜成分处于二萜生源途径的顶端，刺果泽泻属植物的clerodane型二萜处于该途径底端，慈姑属植物既有处于二萜生源途径底端的clerodane型二萜，也有中间类型的pimarene型二萜，还有处于顶端的kaurane型、abietene型二萜，所以从二萜的生源演化途径对应分析宽叶泽苔草和近缘植物类群的进化层次可能依次是：刺果泽泻属植物、慈姑属植物、泽泻属植物、宽叶泽苔草。

上述化学分类学证据为宽叶泽苔草处于进化植物类群提供了佐证，也支持王勇等(2001)关于泽苔草属植物可能是泽泻科中最进化的类群的观点。但是陈丹等(2003)从心皮

发生角度分析认为泽苔草属应放在单一轮状心皮类(如泽泻属)向聚集成头状的多数心皮类(如慈姑属)过渡的位置上，因此，需要系统地分析泽苔草属所有种的化学成分，为这些属进化位置的确立提供更充分的化学分类学证据。

化学分类学研究表明宽叶泽苔草和著名药用植物东方泽泻有很近的亲缘关系，同处于泽泻科植物的进化类群，所以应该积极地保护这种濒危植物，并在此基础上深入研究其系统学各个方面的问题和潜在的药用价值。

宽叶泽苔草、泽泻属、慈姑属、刺果泽泻属植物二萜化学成分在二萜生源途径中所处的演化位置如图1 (龙康侯等, 1984)所示。

参 考 文 献

Charles P D. 1981. A review of the fossil record of monocotyledons. Botanical Review 47: 517–555.

Chen D (陈丹), Chen J-M (陈进明), Wang Y (王勇), Wang Q-F (王青锋). 2003. Floral organogenesis of *Caldesia grandis* Samuel. (Alismataceae). Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 41: 229–234.

Chen J-M (陈进明). 2005. Studies on Conservation Genetics of the Rare and Endangered Aquatic Plant *Caldesia grandis* (Alismataceae)(珍稀濒危水生植物宽叶泽苔草(泽泻科)的保护遗传学研究). Ph.D. Dissertation. Wuhan: Wuhan University.

Chen J M, Wang Q F. 2006. The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (Alismataceae): Comparative results for RAPD and ISSR markers. Aquatic Botany 84: 301–307.

Costa M, Tanaka C M A, Imamura P M, Marsaioli A J. 1999. Isolation and synthesis of a new clerodane from *Echinodorus grandiflorus*. Phytochemistry 50: 117–122.

Gituru W R, Wang Q F, Wang Y, Guo Y H. 2002. Pollination ecology, breeding system and conservation of *Caldesia grandis* (Alismataceae), an endangered marsh plant in China. Botanical Bulletin Academic Sinica 43: 231–240.

Kristina K H, Bruce H T. 1997. The flora of the early Miocene brandon lignite, Vermont, USA. VIII . *Caldesia* (Alismataceae). American Journal of Botany 84: 239–252.

Lin H (林祁), Liu K-M (刘克明). 1997. Notes relating to flora of Hunan: II. Caryophyllaceae, Fagaceae, Umbelliferae, Rubiaceae, Compositae, Alismataceae. Bulletin of Botanical Research (植物研究) 17: 47–49.

Long K-H (龙康侯), Su J-Y (苏镜娱), Zeng L-M (曾陇梅), Luo Y-K (罗永康), Zheng Y-Y (郑益雅), Xie S-K (谢颂凯). 1984. Terpene (萜类化学). Beijing: Higher Education Press. 380–381.

Posluszny U, Charlton W A. 1993. Evolution of the helobial flower. Aquatic Botany 44: 303–324.

Peng G-P (彭国平), Lou F-C (楼凤昌). 2002. Isolation and identification of diterpenes from *Alisma orientalis* Juzep. Acta Pharmaceutica Sinica (药学学报) 37: 950–954.

Peng G P, Tian G, Huang X F, Lou F C. 2002. Structure of orientanone from *Alisma orientalis*, a novel sesquiterpene originating from guaiane-type carbon skeleton by isopropyl shift. Tetrahedron 58: 9045–9048.

Peng G P, Tian G, Huang X F, Lou F C. 2003. Guaiane-type sesquiterpenoids from *Alisma orientalis*. Phytochemistry 63: 877–881.

Vanessa S, Cortez O R, Clara M T. 2004. Abietene diterpenes from *Sagittaria montevidensis* ssp. *montevidensis*. Biochemical Systematics and Ecology 32: 529–531.

Wang Y (王勇), Wang Q-F (王青锋), Gituru W R, Guo Y-H (郭友好). 2001. Karyotypical studies on *Caldesia grandis* Samuel., a rare and endangered marsh plant in China. Journal of Wuhan Botanical Research (武汉植物学研究) 19: 187–190.

Yoshikawa M, Yoshizumi S, Murakami T, Matsuda H, Yamahara J, Murakami N. 1996. Medicinal foodstuffs. II. On the bioactive constituents of the tuber of *Sagittaria trifolia* L. (Kuwai, Alismataceae): absolute stereostructures of trifoliones A, B, C, and D, sagittariosides a and b, and arabinothalictoside. Chemical Pharmaceutical Bulletin 44: 492–499.